ESTUDIOS NUMERICOS EN CYCADALES
II. CYCADALES ACTUALES: SIMULACION DE ARBOLES EVOLUTIVOS (1)

BRUNO PETRIELLA (2)
y JORGE V. CRISCI (2)

SUMMARY

Numerical studies in Cycadales. II. *Living* Cycadales; *Simulation of Evolutionary trees.*

The 10 genera of living *Cycadales* have been used as OTUs in a numerical phylogenetic study. The coefficent of similarity used was mean character difference. Phylogenetic relationships between OTUs have been assessed using two numerical analysis:

(1) "The Wagner Tree": in a procedure entirely numerical and computerized method of J. S. Farris. This procedure produces a evolutionary tree following the principle of parsimony, where OTUs are derived from a given ancestor (an OTU, real or hypothetical) along the most parsimonious path.

(2) "The Prim Network": is a technique where the ancestor is not specified and produces an "indirected tree" or "network". Basically the procedure consist of choosing the shortest links connecting any two OTUs and then by a process of elimination, adding more links until all OTUs are connected in a network.

Three diferent evolutionary trees were constructed: a, "Wagner Tree" ancestor *Cycas*; b, "Wagner Tree" ancestor hypothetical OTU; c, "Prim Network".

1. INTRODUCCION

El estudio de la evolución orgánica involucra fundamentalmente dos aspectos. El primero es el análisis de los procesos evolutivos que, por medio de observaciones y experimentación, trata de dilucidar los mecanismos responsables que son universales en el mundo viviente. El segundo es el que brinda la hipótesis que intenta reconstruir la historia evolutiva de un grupo en particular; señalando los caminos evolutivos seguidos por ese grupo y las relaciones genealógicas de sus integrantes, este segundo aspecto es conocido como filogenia (3).

---

(1) *Estudios numéricos en Cycadales. I. Cycadales actuales: Sistemática* en Boletín Sociedad Argentina de Botánica 16 (13): 231-247, 1975.

(2) División Paleobotánica y Plantas Vasculares respectivamente, Museo de La Plata, 1900 La Plata, Argentina, Miembros de la Carrera del Investigador Científico. CONICET, Buenos Aires.

(3) Como lo ha señalado Solbrig (1970), el término filogenia crea cierta confusión, dado que se lo utiliza con dos sentidos. Uno es el que lo sinonimiza con la historia evolutiva de un grupo, que no puede ser completamente develada. Otra interpretación es la que considera la historia evolutiva inferida de los datos obtenidos (paleontológicos, fitogeográficos, morfológicos, etc.). En este trabajo adoptamos este último criterio.

Obra del Centenario del Museo de La Plata, Tomo III, de pág. 151 a 159, 1977

Un enfoque moderno de la filogenia es el uso de técnicas numéricas en su elaboración. Este estudio cuantitativo de la filogenia intenta conciliar la precisión de las técnicas numéricas con el alcance de las inferencias evolutivas; posee dos ventajas:

— Un alto grado de objetividad en los procedimientos metodológicos.

— El investigador debe establecer con precisión sus premisas al comienzo del trabajo.

En la parte I de esta serie (Petriella y Crisci, 1975) nuestro objetivo fue el estudio sistemático de las *Cycadales* actuales con miras a obtener un ordenamiento de los géneros (unidad de trabajo elegida) puramente fenético.

Esta segunda contribución tiene como objetivo presentar una posible filogenia de las *Cycadales* actuales, con la ayuda de técnicas numéricas. Los datos que utilizamos son los mismos que en la primera entrega.

2. METODOLOGIA

Hemos tomado los diez géneros vivientes de *Cycadales* como unidades, partiendo de dos postulados básicos:

— Los diez géneros forman un grupo monofilético. (1)

— Cada género a su vez está compuesto por una especie o un grupo monofilético de especies.

El trabajo de computación fue realizado en una IBM 360/50 del CESPI (Centro de Estudios Superiores para el Procesamiento de la Información) de la Universidad Nacional de La Plata. Los programas utilizados están escritos en FORTRAN IV y han sido confeccionados por James S. Farris.

2.1. TECNICAS NUMERICAS

Existen diversos enfoques del estudio de la filogenia por métodos numéricos; entre ellos merecen citarse: Edwards y Cavalli Sforza (1964), Camin y Sokal (1965), Kluge y Farris (1969), Fitch y Margoliash (1967) y Dayhoff (1969 a y b).

A pesar de que estos enfoques presentan notorias diferencias técnicas entre ellos (ver Sneath y Sokal, 1973) frecuentemente sus resultados son coincidentes.

Estas técnicas requieren una matriz básica de datos (MBD) similar a la de estudios de Taxonomía Numérica donde las filas presentan los OTUs ("Operational Taxonomic Units") y las columnas representan los caracteres divididos en sus posibles estados (o columnas: OTUs, filas, caracteres). De esta matriz básica de datos se obtiene un coeficiente de similitud entre cada par posible de OTUs. Con esos coeficientes se construye un hipotético árbol evolutivo.

En la construcción del árbol evolutivo se hace necesario elegir entre un gran número de árboles posibles. Esta selección puede hacerse utilizando un postulado que afirma: *el árbol supuestamente más cercano a la realidad, es aquel que implica la menor cantidad de cambios evolutivos entre OTUs.* (Camin y Sokal 1965). En este caso, el árbol a construir, es el que utiliza la menor cantidad de pasos ("most parsimonious tree"). La cantidad de pasos ("steps" fide Camin y Sokal, 1965) puede asimilarse a la longitud del árbol expresada en la medida del coeficiente de similitud utilizado. La etapa de construcción del árbol sería equivalente a la de agrupamiento ("clustering") de la Taxonomía Numérica.

---

(1) Un grupo monofilético comprende todos los descendientes de un grupo de individuos que en su tiempo pertenecieron a una misma especie (Hennig, 1966).

2.1.1. MATRIZ BASICA DE DATOS (MBD)

Hemos utilizado la matriz básica de datos de la parte I de esta serie (Petriella y Crisci, 1975, Cuadro I), donde las filas representan los OTUs, que son los diez géneros vivientes de Cycadales: *Cycas, Stangeria, Lepidozamia, Macrozamia, Encephalartos, Dioon, Microcycas, Ceratozamia, Zamia, Bowenia.* Las columnas representan 26 caracteres divididos en sus estados posibles (52 en total).

2.1.2. COEFICIENTE DE SIMILITUD

El coeficiente de similitud utilizado en este trabajo es un coeficiente de distancia (D) conocido como "mean character difference" (M. C. D.), que se define para un par posible de OTUs (A y B), como la sumatoria del valor absoluto de la diferencia de los estados de los caracteres del OTU A con el OTU B.

$$D\,(A,B) = \sum_{i}^{n} X\,(A,i) - X\,(B,i) =$$

Donde X (A,i) es el estado del carácter "i" para el OTU A y "n" es la suma del número de estados de todos los caracteres.

2.1.3. CONSTRUCCION DEL ARBOL EVOLUTIVO

El postulado de Camin y Sokal, ha sido el fundamento utilizado por diferentes investigadores para la construcción, mediante técnicas numéricas, de diferentes árboles evolutivos. Entre ellos hallamos a Edwards y Cavalli-Sforza (1964) utilizando la técnica "Prim" y Kluge y Farris (1969) utilizando la técnica denominada "Wagner".

Las relaciones filogenéticas de los OTUs fueron evaluadas usando las dos técnicas citadas.

La técnica "Prim" ("Prim networks") produce un árbol evolutivo al que no se le especifica un antecesor ("network" o "indirected tree").

La técnica "Wagner" ("Wagner Trees") produce un árbol evolutivo ("directed tree", "evolutionary tree" o "phylogenetic tree") donde los OTUs derivan de un antecesor dado (un OTU real o hipotético).

Es necesario puntualizar que estas técnicas solo proveen hipótesis de trabajo del "verdadero" árbol evolutivo.

2.1.3.1. TECNICA PRIM

La Técnica Prim fue desarrollada por R. C. Prim (1957) para determinar la línea más corta que uniera un conjunto dado de terminales telefónicas. Esta técnica ha sido aplicada a problemas biológicos (sistemáticos o evolutivos, Edwards y Cavalli-Sforza 1964, Solbrig, 1970, 1971 y Crisci, 1974). Básicamente el procedimiento consiste en elegir un OTU cualquiera y entre los restantes hallar el que tiene mayor similitud con él (en nuestro caso menor distancia), unir esos dos OTUs por un intervalo igual a la distancia entre ellos y luego por un proceso de eliminación ir incorporando los otros OTUs uno por vez hasta que todos ellos estén conectados. Esto permite la construcción de un gráfico bidimensional que representa, en nuestro caso, una posible estructura genealógica.

Descripciones detalladas del algoritmo y una versión del programa en FORTRAN IV se encuentra en Farris (1970).

La técnica Prim es muy útil en estudios evolutivos para el análisis preliminar de los datos.

2.1.3.2. TECNICA WAGNER

Esta técnica está basada en un concepto desarrollado por W. H. Wagner (1961, 1963, 1966 y 1969) e ilustrado por trabajos como el de Mickel (1962), Le-

llinger (1964) y Kesling y Sigler (1969). Este concepto constituye el fundamento utilizado por Kugle y Farris (1969) para desarrollar lo que denominaron "quantitative phyletic taxonomy" y que es un procedimiento numérico que requiere la utilización de una computadora digital para construir un árbol evolutivo. Ejemplos de la aplicación de esta técnica en Botánica son los trabajos de Solbrig (1970 y 1971) sobre *Gutierrezia (Compositae)*.

La técnica Wagner exige la elección de un antecesor como paso previo a su aplicación. El antecesor puede ser un OTU (considerado muy primitivo) o puede ser un vector que representa un OTU hipotético.

Dado que el objetivo de la técnica es el de producir un árbol con el menor número de cambios evolutivos, se incorporan a éste unidades intermedias hipotéticas (HTU, sigla de "Hypotethical Taxonomic Units", Farris 1970) que acortan la longitud del árbol, entendiéndose por longitud la suma de todos los intervalos del árbol expresados en medida de distancia. Estos HTU constituyen puntos de ramificación del árbol.

El árbol inicialmente contiene un solo elemento, el antecesor, que puede ser hipotético, en cuyo caso es tratado como OTU y no como HTU ya que el estado de sus caracteres son precisados por el investigador y no calculados por el algoritmo.

Básicamente la técnica Wagner consiste en elegir un antecesor y calcular la distancia con cada uno de los restantes OTUs. Se une al antecesor el OTU con menor distancia y el resto se va incorporando de acuerdo al mismo principio. En cada caso se construye un HTU que conecta al OTU con el árbol.

Es importante destacar que esta técnica permite la reversibilidad de los estados de los caracteres.

El fundamento teórico de la técnica Wagner es descripto y comentado detalladamente por Kluge y Farris (1969), Farris. Kluge y Eckardt (1970), Lundberg (1972), Baird y Eckardt (1972 y Nelson y Van Horn (1975).

Los detalles sobre la computación de la técnica han sido expuestos por Farris (1970).

Utilizando la técnica Wagner hemos construido dos árboles distintos. cada uno de ellos a partir de sendos antecesores.

1) *Cycas* como antecesor: Su elección se debe a que reune varias estructuras arcaicas: troncos aéreos muy desarrollados, polixilia, traqueidas alternas, frondes monopinnadas con pinnulas teniopterideas, traza foliar unifasciculada, estomas dispuestos sin orden, megasporofilos foliosos y pluriovulados.

La naturaleza arcaica de estas estructuras halla fuerte asidero en evidencias paleontológicas; por ejemplo, ya en el Pérmico *Archaeocycas y Phasmatocycas* (Mamay 1973) presentaban megasporofilos semejantes a los de *Cycas*. La reconstrucción de *Paleocycas integer* efectuada por Florin en 1933 pone de manifiesto la similitud entre esta especie triásica y *Cycas*. El estudio de troncos de *Cycadaceae* fósiles (*Menucoa*, Petriella 1969) de antigüedad Cretácico superior-Terciario inferior, revela la existencia de escasas diferencias, pese al lapso de más de 70.000.000 de años que separa ambos taxa.

2) OTU hipotético como antecesor. Sus caracteres han sido establecidos de acuerdo al cuadro 1 que resume una serie de tendencias evolutivas. Estas han sido inferidas utilizando el principio de que un estado común a todos o a la mayor parte de los integrantes de un grupo se manifestó en su antecesor inmediato (Willis 1922, Wagner 1961, Taylor y Campbell 1969).

También hemos tenido en cuenta datos provenientes del testimonio fósil y que hemos citado al tratar a *Cycas* como antecesor.

Cuadro 1

	PRIMITIVO	DERIVADO
tamaño	desarrollado	reducido
fronde	entera monopinnada	bipinnada
venación pínnulas	teniopteroidea	reticulada
traza foliar	unifasciculada	plurifasciculada
arco foliar	simple o complejo	en herradura/cir. concéntricos
distribución estomas	desordenada	ordenada
haces medulares	presentes/libres	ausentes/anastomosados
anillo vascular	polixilico	monoxilico
punteaduras traqueidas	araucarioide	escalariforme
megasporofilos	libres	estrobilares
número de óvulos	numerosos (4-6)	escasos (1-2)
número cromosómico	n=8	n=11,13

Cuando por la naturaleza del carácter (por ej. número cromosómico) no se pudo inferir el estado primitivo, el mismo fue tomado de *Cycas*.

El vector de este antecesor hipotético en la Matriz Básica de datos (MBD, Petriella y Crisci, 1975) es: 1 1 1 1 1 0 1 0 0 0 1 0 1 0 1 1 0 1 0 0 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 1 0 1 0 1 0 0 1 0 1 0 0 1 1 0 0.

4. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los árboles evolutivos obtenidos son esencialmente similares, dado que los OTUs se agrupan casi de la misma forma (ver fig. 1) confirmando así los resultados obtenidos por métodos fenéticos.

Conviene destacar que la posición de *Dioon* es la que más varía, por cuanto en el árbol con *Cycas* como primitivo se ubica entre el HTU (ver apéndice) que origina las *Encephalarteae* (sensu Johnson 1959) y el HTU que origina el complejo *Microcycas-Ceratozamia;* mientras que en el otro árbol se ubica antes del HTU que origina las *Encephalarteae*.

Pese a la semejanza general, cada árbol presenta particularidades, que serán evidentes en comentarios individuales de cada uno de ellos.

4.1 Arbol con *Cycas* como antecesor (Fig. 1 B)

En él es fundamental la presencia de los HTUs 11 y 14, a través de los cuales se alcanzan casi todos los caracteres derivados. En efecto, entre otros caracteres, el HTU 11 ya cuenta con estomas ordenados y megasporofilos estrobilares. A su vez, el HTU 14 que presenta numerosos caracteres derivados, aún retiene como primitivos la traza foliar unifasciculada y el arco foliar simple. También interesa destacar que algunos caracteres derivados fueron alcanzados independientemente (por ej. la traza foliar plurifasciculada).

4.2 Arbol con antecesor hipotético (Fig. 1 C)

En este árbol el primer HTU que aparece es aún primitivo y se diferencia poco del antecesor común, es evidente también que en la base del árbol existe un complejo primitivo (HTU 12 y *Cycas*).

El primer salto evolutivo se produce en la transición HTU 12 a HTU 13 donde se alcanza entre otros caracteres los megasporofilos estrobilares. El HTU 13 aún reúne sin embargo, varios caracteres primitivos lográndose recién en el HTU 14 una preponderancia de caracteres derivados.

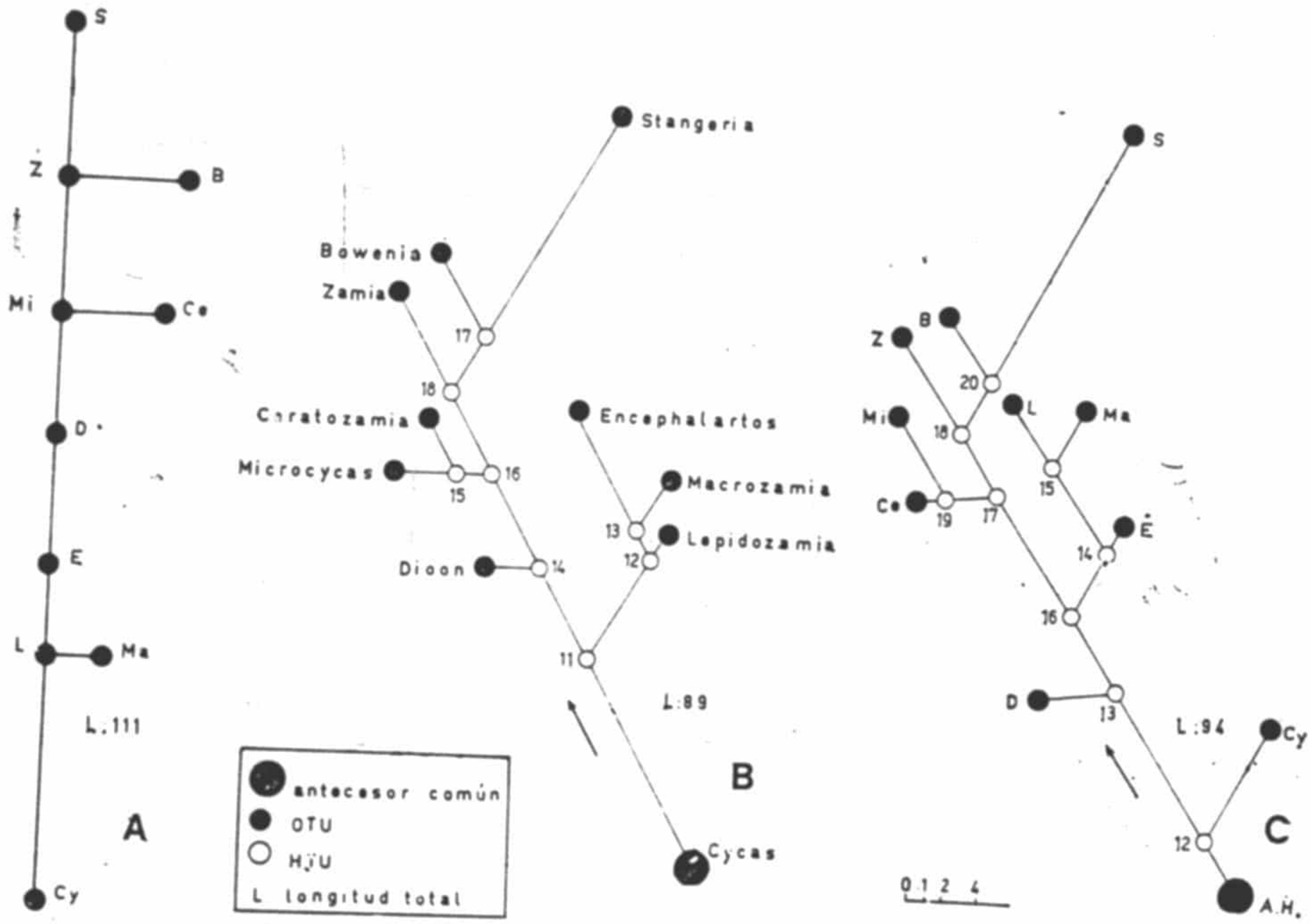

Figura 1: Simulación de árboles evolutivos en Cycadales. A, Técnica Prim con 10 OTUs. B, Técnica Wagner con 10 OTUs considerando a Cycas como antecesor del grupo. C, Técnica Wagner con 11 OTUs considerando a un OTUs hipotético (A. H.) como el antecesor del grupo.

Es interesante señalar que el salto evolutivo que va de *Cycas* al HTU 11 en el primer árbol, en el segundo solo se alcanza en el HTU 16.

En ambos árboles el mayor nivel evolutivo es alcanzado en *Stangeria*.

4.3 Técnica Prim

Al carecer de direccionalidad la técnica Prim posee la ventaja de que cualquiera de los OTUs puede ser considerado el antecesor de los restantes. En la representación gráfica (fig. 1 A) se puede apreciar una notable coincidencia con los resultados fenéticos y con los árboles ya comentados. Se puede destacar por ejemplo:

— El agrupamiento de los géneros que integran las *Encephalarteae*.

— La existencia de un complejo *Microcycas-Ceratozamia*.

— La posición de *Dioon* que une al complejo citado con las *Encephalarteae*.

— La interrelación entre *Zamia*, *Stangeria* y *Bowenia*.

— El aislamiento de *Cycas*, *Bowenia* y *Stangeria*.

5. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los doctores Eduardo Musacchio y Sergio Archangelsky la lectura crítica del manuscrito; sin que ello signifique responsabilidad alguna, para estas personas, en lo que el trabajo pueda tener de controvertible.

APENDICE

VECTORES DE LOS HTU'S (ver MBD, Petriella y Crisci 1975)

6.1 *Cycas* como antecesor (10 OTU'S)

HTU 11 0 0 0 1 1 0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 1 0 1 0 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0
1 1 0 1 0 0 1 0 1 0 1 0 0 0 1 0 0 0

HTU 12 0 0 0 1 1 0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 0 1 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 0 1 0 0 1 0
1 1 0 1 0 0 1 0 1 0 1 1 0 0 1 0 0

HTU 13 0 0 0 1 1 1 1 0 0 0 1 1 0 0 1 0 1 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 0 1 1 0 1 0
1 1 0 1 0 0 1 0 1 0 1 1 0 0 1 0 0

HTU 14 1 0 0 0 1 0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 1 0 1 0 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 1
0 1 1 1 0 0 1 0 1 0 1 0 1 0 1 0 0

HTU 15 1 0 0 0 1 0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 0 1 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 1
0 1 1 1 0 0 1 0 1 1 0 1 1 0 0 0 0

HTU 16 1 0 0 0 1 0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 1
0 1 1 1 0 0 1 0 1 1 0 1 1 0 1 0 0

HTU 17 0 0 0 0 0 1 1 0 0 0 1 0 1 1 0 0 1 0 0 0 0 1 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1
0 1 1 1 0 0 1 0 1 1 0 1 0 0 1 0 0

HTU 18 1 0 0 0 0 1 1 0 0 0 1 1 1 1 0 0 1 0 0 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 1
0 1 1 1 0 0 1 0 1 1 0 1 1 0 1 0 0

6.2 OTU hipotético como antecesor (11 ITUs)

HTU 12 1 1 0 1 1 0 1 0 0 0 1 0 1 0 1 1 0 1 0 0 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 1 0 0
1 1 0 1 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 1 0 0

HTU 13 1 1 0 0 1 0 1 0 0 0 1 0 1 0 1 1 0 1 0 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 0 0 1 0 0 0
1 1 1 1 0 0 1 0 1 0 1 0 1 0 1 0 0

HTU 14 0 1 0 0 1 1 1 0 0 0 1 0 1 0 1 0 1 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 0 1 1 0 1 0
1 1 1 1 0 0 1 0 1 0 1 1 1 0 1 0 0

HTU 15 0 0 0 1 1 1 1 0 0 0 1 1 0 0 1 0 1 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 0 1 1 0 1 0
1 1 0 1 0 0 1 0 1 0 1 1 0 0 1 0 0

HTU 16 1 1 0 0 1 0 1 0 0 0 1 0 1 0 1 0 1 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 1 0 0 1 0 0 0
1 1 1 1 0 0 1 0 1 0 1 1 1 0 1 0 0

HTU 17 1 0 0 0 1 0 1 0 0 0 1 0 1 0 1 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 1
0 1 1 1 0 0 1 0 1 1 0 1 1 0 1 0 0

HTU 18 1 0 0 0 0 1 1 0 0 0 1 0 1 1 0 0 1 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 1
0 1 1 1 0 0 1 0 1 0 0 1 1 0 1 0 0

HTU 19 1 0 0 0 1 0 1 0 0 0 1 1 0 0 1 0 1 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 1
0 1 1 1 0 0 1 0 1 1 0 1 1 0 0 0 0

HTU 20 0 0 0 0 0 1 1 0 0 0 1 0 1 1 0 0 1 0 0 0 0 1 0 1 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 1
0 1 1 1 0 0 1 0 1 1 0 1 0 0 1 0 0

BIBLIOGRAFIA

BAIRD, R. C. & ECKARDT, M. J., 1972. — Divergence and Relationship in Deep-Sea Hatchetfishes (Sternoptychidae) *Syst. Zool.* **21** (1): 80-90.

CAMIN, J. H. & SOKAL, R. R., 1965. — A method for deducing branching sequences in phylogeny. *Evolution*, **19**: 311-326.

CRISCI, J. V., 1974 — A numerical taxonomic study of the subtribe Nassauviinae (Compositae-Mutisieae), *Jour. Arnold Arb.*, **55** (4): 568-610.

DAYHOFF, M. O., 1969 a. — Atlas of Protein Sequence and Structure 1969. National Biomedical Research Foundation, Silver Springm Md. 315. pp.
— 1969 b. — Computer Analysis of protein evolution. *Sci. Amer.*: 86-94.

EDWARDS, A. W. & CAVALLI-SFORZA, L. L., 1964. — Reconstruccion of evolutionary trees. In V. H. Heywood y J. Mc Neill (eds.) Phenetic and Phylogenetic classification, pp. 67-76. Syst. Ass. Pub, 6. 164 pp.

FARRIS, J. S., 1970. — Methods for Computing Wagner Trees. *Syst. Zool.* **19** (1): 83-92.

FITCH, W. M. & MARGOLIASH, E., 1967. — Construction of phylogenetic trees. *Science* **155**: 279-284.

FLORÍN, R., 1933. — Studien über die Cycadales der Mesozoikuus. *Kung Sv. Vet. Hand* 3 ser. **12** (5): 1-134, 16 1s.

HENNIG, W., 1966. — Phylogenetic Systematics. University of Illinois Press, Urbana. 263 pp.

JOHNSON, L. A. S., 1959. — The families of Cycads and the Zamiaceae of Australia. *Proc. Linnean Soc. New. South Wales* **84**: 64-117.

KESLING, R V. & SIGLER, J. F., 1969. — Cunctocrinus, a new Devonian calceocrinid crinoid from the Silica Shale of Ohio. *Contr. Mus. Paleont. Univ. Michigan* **22**: 339-360.

KLUGE, A. G. & FARRIS, J. S., 1969. — Quantitative phyletics and the evolution of Anurans. *Syst. Zool.* **18** (1): 1-32.

LELLINGER, D. B., 1964. — Quantitative assesment of evolutionary patterns in the chailanthod ferns. *Abst. Pap. X. Int. Bot. Congr. Edimburgo*, pp. 414-415.

LUNDBERG, J. G., 1972. — Wagner Networks and Ancestors. *Syst. Zool.* **21** (4): 398-413.

MAMAY, S. H., 1973. — Archaeocycas and Phasmatocycas-New genera of Permian Cycads. *Jour Research U. S. Geol. Survey* **1** (6): 687-689, 1 fig.

MICKEL, J. T., 1962. — A monographic study of the fern genus Anemia Subgenus Coptophyllum. *Iowa State J. Sci.*, **36**: 349-482.

NELSON, Ch. H. & VAN HORN, G. S., 1975. — A new simplified method for constructing Wagner Networks and the cladistic of Pentachaeta (Compositae, Astereae). *Brittonia* **27**, (4): 362-372.

PETRIELLA, B., 1969. — Menucoa cazaui nov. gen. et sp. tronco petrificado de Cycadales, provincia de Río Negro, Argentina. *Ameghiniana* **6** (4): 291-302, **3** figs. 1 lám.

PETRIELLA, B. & CRISCI, J. V., 1975. — Estudios numéricos en Cycadales I. Cycadales actuales: Sistemática. *Bol. Soc. Arg. Bot.* **16** (3): 231-247.

PRIM, R. C., 1957. — Shortest connection networks and some generalizations. *Bell Syst. Tech. Jour.* **36**: 1389-1401.

SNEATH, P. H. A. & SOKAL, R. R., 1973. — Numerical Taxonomy; the principles and practice of numerical classification. *Freeman & Co. San Francisco.* 573 pp.

SOLBRIG, O. T., 1970. — The phylogeny of Gutierrezia: an eclectic approach. *Britonia* 22 (3): 217-229.

— 1971. — Polyphyletic origin of tetraploid populations of Gutierrezia sarothrae (Compositae). *Madroño* 21 (1): 20-25.

TAYLOR, R. J. & CAMPBELL, D., 1969. — Biochemical systematics and phylogenetic interpretations in the genus Aquilegia. *Evolution* 22: 153-162.

WAGNER, W. H. Jr., 1961. — Problems in the classification of Ferns. *Recent Advances in Botany* 1: 841-844.

— 1963. — Biosystematics and taxonomic categories in lower vascular plants. *Regnum Vegetabile* 27: 63-71

— 1966. — Modern research on evolution in ferns. pp. 164-184. Jensen W. A. & L. G. Kavaljian, Plant Biology Today: Advances and challenges. Ed. 2. Bel mont, California: Wadsworth Publishing Co., Inc. 208 pp. Traducción Castellana: La Biologia Vegetal en nuestros dias. Avances y Problemas. Herrero Hermanos. México.

— 1969. — The construction of a classification. In C. G. Sibley (Chairman), Systematic Biology. Proceedings of International Conference Conducted at the University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, June 14-16, 1967. Nat. Acad. Sci. Wash. Pub. 1692. 632 pp.

WILLIS, J. C., 1922. — Age and Area. A study in geographical distribution and origin of species. Cambridge University Press, 259 pp.